

DOMANDE ESAME TUTINO**Consigli: leggere la propria tesi e gli articoli**

1. Preselezione library concettuale
2. Quali sono le caratteristiche del test primario?
3. Parla del rivestimento cellulare dei lieviti.
4. Vuoi produrre una proteina ricombinante in lievito isolata da un fungo. Come produrresti il lievito ricombinante?
 - a. Quale lievito?
 - b. Quale sistema molecolare?
 - c. Per passare da fungo a lievito devi cambiare qualcosa nella sequenza proteica?
 - d. Quale cassetta di espressione usi?
 - e. Con quale modalità fermentativa porti avanti il processo in questo scenario?
 - f. Secondo te potrebbe essere utile l'immobilizzazione?
 - g. Scopriamo che la proteina resta legata alla cellula (non la vediamo secreta) come capisci dove sta il problema?
5. I lieviti si sono inventati il metabolismo del metanolo. Scrivi la reazione di metanolo e O_2 e FAD, che danno formaldeide e H_2O_2
6. Quale concetto definisce i destini della formaldeide?
7. Si vuole creare saccaromyces modificato per svolgere il metabolismo del metanolo...come faresti? Come entra il metanolo nella cellula? Che c'entra il coefficiente di ripartizione? Come si accumula il metanolo nel perossisoma?
8. Quali geni servono per rendere il microrganismo non metilotrofo capace di crescere su metanolo?
9. Come potrei inserire tutti questi geni? Metteresti i 5 geni su un solo plasmide?
10. Vantaggi e svantaggi di fare integrazione in sequenza o meno?
11. Schema del gene replacement two steps
12. Metodi statistici per l'ottimizzazione dei terreni di coltura
13. Effetto crab tree
14. Come entra il glucosio nella cellula?
15. Cosa fa saccaromyces per resistere all'etanolo?
16. Tipi di promotori
17. Voglio produrre una proteina X cosa faccio per farla produrre in grosse quantità?
18. Definizione Biofilm, Caratteristiche e applicazione a piacere.
19. Vantaggi e Svantaggi produzione proteina ricombinante in biofilm
20. YAC a cosa serve, disegno, struttura, ruolo SUP4
21. Soppressione intergenica e intragenica
22. Produzione della lisina - tutti i nomi e passaggi
23. Differenza tra le due vie che portano alla produzione di lisina
24. Che modalità di crescita scegli per la produzione di lisina
25. Parlami di un articolo che ti ha maggiormente colpito
26. Che cos'è la flussomica? Di che strumenti fa uso?
27. Differenza tra flussomica di prima generazione e seconda generazione.
28. Che cos'è un modello stechiometrico all'equilibrio?
29. Quali sono le reazioni che vai a considerare per il modello? Dipende dal metabolismo
30. Dove viene formata l'ATP durante la fermentazione?
31. Perché alcune reazioni della glicolisi sono formate da reazioni irreversibili? Idrolisi ATP e ΔG negativo
32. Come possiamo aumentare la frequenza dell'evento integrativo?
33. Che significa avere un marker di selezione selezionabile e contro-selezionabile?
34. Procedura di screening: quando scelgo tra screening e miglioramento mirato?
35. Dopo aver fatto l'identikit enzima ideale: come la scegli la library? Importante la ricerca bibliografica
36. I problemi circa la secrezione in che ambito li puoi ritrovare? Proteine ricombinanti
37. Quali sono gli svantaggi del miglioramento mirato?
38. Caratteristiche di metanolo ossidasi e DHAS
39. Differenza tra FAD e NAD: il primo non è solubile, mentre il NAD sì.
40. Qual è il destino del perossido di idrogeno prodotto dopo l'alcol ossigenasi?
41. Via dissimilativa della formaldeide: posso trasformarla in un organismo non metilotrofo?
42. Perché per un microrganismo metilotrofo o per la produzione di proteine con a monte un promotore indotto da metanolo usiamo il Fed Batch? Volatile, costa e può essere 'mangiato'.. non è GRAS
43. Che metabolismi avvengono nei perossisomi?
44. Dovremmo aumentare la concentrazione di glutatione?
45. Genoma di SC
46. Se scegli di effettuare inserzioni multiple, come puoi selezionarli?
47. Potrebbe SC crescere solo su metanolo (dopo che lo abbiamo reso metilotrofo solo per una delle due vie della formaldeide)?

48. Che tipologia di risultati ci fornisce il metodo di Pluckett and Burman?
49. Con questi metodi statistici possiamo ottimizzare non solo la composizione del terreno di coltura ma anche i parametri chimico-fisici, come possiamo purificare una proteina che ha come $pK_a=10$? Pensa a pK_a e la carica che essa assume in base al pH del buffer. Ogni esperimento multiparametrico può essere ottimizzato in questo modo. Un limite può essere proprio fare le prove sperimentali e dalla concentrazione proteica.
50. Che cosa indicano i coefficienti B? (metodi statistici)
51. Grafico RSM
52. Utilizzeresti un sistema RSM per la produzione di metaboliti secondari?
53. Processo industriale per la produzione della penicillina
54. Perché usiamo il fed batch per la produzione di metaboliti secondari?
55. Concentrazione alla quale si ha lo switch tra fermentazione e respirazione? Millimolare
56. Quali nutrienti controlliamo per la produzione di penicillina? N, Glucosio e ossigeno
57. Che cosa sono i glucani? Polisaccaridi di glucosio
58. Componenti stabilmente presenti nella parete e variabili?
59. Cosa regola la flocculazione e flottazione? Lectine
60. Come influisce il Calcio su questi fenomeni? Funge da ponte e favorisce l'aggregazione
61. Produzione di Lisina: come si fa a scegliere tra l'una o l'altra via?
62. Antibiotici e meccanismi di resistenza
63. Metaboliti secondari
64. Quali sono i ceppi produttori di antibiotici?
65. Strategia di screening per l'individuazione di un nuovo antibiotico. Scelta della library.
66. La metanolo ossidasi può ossidare l'etanolo?
67. Come viene consumato l'etanolo da SC?
68. Come coltivi 5k microrganismi contemporaneamente? Che strumenti di lab usi?
69. Che cos'è l'antibiogramma? Descrivi la procedura e l'allestimento delle piastre.

Disegni e strutture da saper fare

- Curva di rarefazione
- Curva di crescita
- Superficie di Risposta
- Prima reazione del ciclo del metanolo
- One Step e Two Step
- YAC
- Penicillina
- Cefalosporine
- PFPS
- Gene targeting
- Grafico RSM
- Via dissimilativa formaldeide
- Regolazione del trasporto del maltosio
- URA3 reazioni